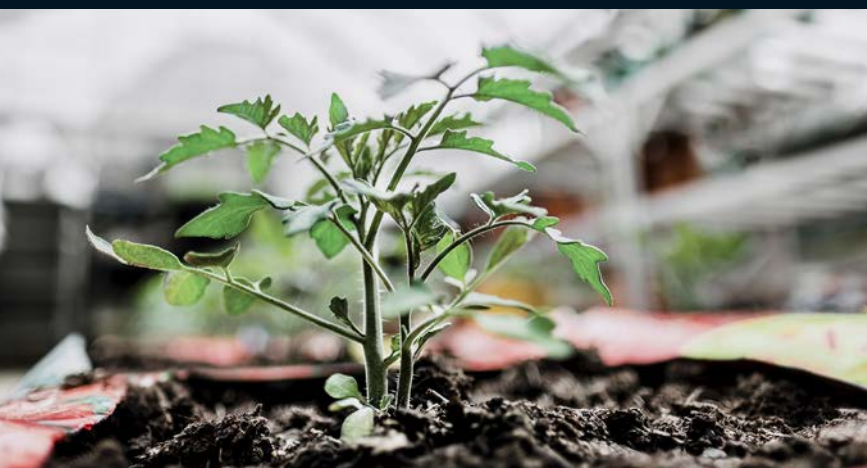


La Unión Europea financiará el proyecto europeo ChlorPlant durante tres años para profundizar en cómo la nutrición de cloruro modula los efectos del manejo del agua sobre el desarrollo, el uso del agua y el nitrógeno, la producción y calidad de los frutos de tomate

42

Beneficios de una fertilización rica en cloruro para la agricultura y sus efectos en la salud humana



Miguel A. Rosales, Juan D. Franco-Navarro,
Francisco J. Moreno-Racero,
José M. Colmenero-Flores

Grupo de Regulación Iónica e Hídrica en Plantas (RIH), Instituto de Recursos Naturales y Agrobiología de Sevilla (IRNAS), CSIC

El cloruro es un micronutriente esencial que tradicionalmente se ha considerado perjudicial para la agricultura por su efecto tóxico en salinidad y por competir con el nitrato. Sin embargo, recientemente hemos descubierto que la fertilización con cloruro confiere unas funciones beneficiosas para las plantas, cuando el cloruro se acumula en hoja a niveles típicos de un macronutriente. Entre los efectos positivos destacan la estimulación del crecimiento, mayor rendimiento fotosintético, menor gasto de agua gracias a un consumo más eficiente y una mayor resistencia a sequía. Además, la fertilización con cloruro mejora la eficiencia en el uso del nitrógeno y reduce la acumulación de nitrato en hoja, generando beneficios para una agricultura más sostenible y resiliente, y un consumo más saludable.

El cloruro es uno de los 16 elementos esenciales para el crecimiento de las plantas. Este anión se considera un micronutriente por su bajo requerimiento para el desarrollo saludable de los cultivos, el cual oscila entre 0,2-0,4 g kg⁻¹ de materia seca (Marschner, 2012). Por tanto, se supone que el cloruro está presente en el medio ambiente en concentraciones suficientes para cubrir el requerimiento de las plantas, siendo bastante rara la aparición de síntomas de deficiencia en hábitats naturales y en la agricultura (White & Broadley, 2001; Raven, 2017). La fuente principal de cloro en la Tierra proviene del agua de lluvia, el spray del agua marina, el polvo, la intrusión marina, y la contaminación industrial y agrícola. En su forma soluble, el cloruro es absorbido por las raíces a través de un complejo sistema de transportadores aniónicos, y se transporta al resto de la planta siguiendo el flujo de agua inducido por la transpiración (Colmenero-Flores et al., 2019). Como un micronutriente esencial, el cloruro ejerce una serie de funciones para el crecimiento y desarrollo de las plantas: 1) está involucrado en la fotosíntesis

mediante la estabilización del Fotosistema II; 2) regula la actividad de enzimas como la asparagina sintetasa y la H^+ -ATPasa del tonoplasto; 3) participa en la regulación osmótica celular, coordinando procesos de turgor celular, como los movimientos estomáticos o násticos; y 4) balancea las cargas positivas de cationes de gran importancia para las células vegetales (protones, potasio y calcio), regulando los gradientes de pH y estabilizando el potencial eléctrico de las membranas celulares (Colmenero-Flores et al., 2019).

Tradicionalmente, y a pesar de su naturaleza esencial para las plantas, en el sector agrícola se ha considerado al cloruro como un elemento tóxico para los cultivos más que un nutriente esencial, ya que suele ser el anión mayoritario que acompaña al sodio en condiciones de salinidad. Tal es el cúmulo de creencias, a veces inexactas, que ofrecen una imagen generalizada de que el cloruro es perjudicial para la agricultura, que la actual normativa de fertilizantes exige mostrar información sobre su contenido o incluso limita su presencia en los mismos (Real Decreto 56/2013; BOE-A-2013-7540). Esta estigmatización se basa en tres motivos principales: 1) que la presencia de cloruro ambiental y residual cubre siempre el requerimiento nutricional de los cultivos, 2) que el cloruro es un antagonista del nitrato y reduce su toma por las plantas, y 3) que el cloruro es un componente de la toxicidad por la salinidad y, por tanto, un ion tóxico *per se*.

El cloruro como macronutriente beneficioso para las plantas: mejora de la eficiencia en el uso del agua y la resistencia a sequía

Recientemente, en nuestro grupo de investigación 'Regulación Iónica e Hídrica en Plantas' del IRNAS-CSIC, liderado por el Dr. José M. Colmenero-Flores, y como parte del proyecto de Tesis Doctoral de Juan D. Franco-Navarro y de la investigación posdoctoral del Dr. Miguel A. Rosales, hemos demostrado que la

aplicación de cloruro a niveles propios de un macronutriente (por ejemplo, entre 20-50 $mg\ g^{-1}$ de materia seca foliar; Franco-Navarro et al., 2016) resulta beneficiosa para el crecimiento y desarrollo de las plantas. Así, observamos que la fertilización con estas concentraciones de cloruro, superiores a las requeridas como micronutriente, pero lejos de causar toxicidad, aumenta significativamente el crecimiento en diferentes plantas hortícolas (tabaco, tomate, lechuga, espinaca y acelga). En este estudio el tratamiento de cloruro se comparó con un tratamiento control (SP) que contenía una mezcla de sales de sulfato y fosfato con las mismas concentraciones de cationes acompañantes: potasio, calcio y magnesio (Figura 1). Este efecto beneficioso se debe principalmente a que la aplicación de cloruro induce una serie de funciones importantes tanto a nivel osmoregulatorio como de desarrollo. El cloruro es el agente osmótico preferido por las plantas ya que, en comparación con el nitrato o el malato, no puede ser asimilado y determina un potencial osmótico más negativo y mayor turgencia. Es por ello que, si el cloruro se encuentra disponible en el suelo, las plantas lo toman activamente y lo acumulan en la vacuola más eficazmente que otros osmolitos. Esto confiere a las células vegetales una mayor turgencia, que es la fuerza conductora de la elongación celular en las plantas. El resultado son tejidos fotosintéticos con células más grandes y mayor capacidad de acumulación de agua (Franco-Navarro et al., 2016). Por otra parte, el uso preferente de cloruro para generar turgencia en las vacuolas es mucho más eficiente en términos del uso de recursos de gran importancia para las plantas. Así, la acumulación de cloruro en la vacuola reduce muy significativamente la acumulación de nitrato y de ácidos orgánicos como el malato, que son fuentes de Nitrógeno (N) y Carbono (C) que quedan disponible para su conversión en biomasa. Por este motivo, además de incrementar el contenido hídrico, el cloruro aumenta la biomasa seca vegetal (Figura 1; Franco-Navarro et al. 2016).

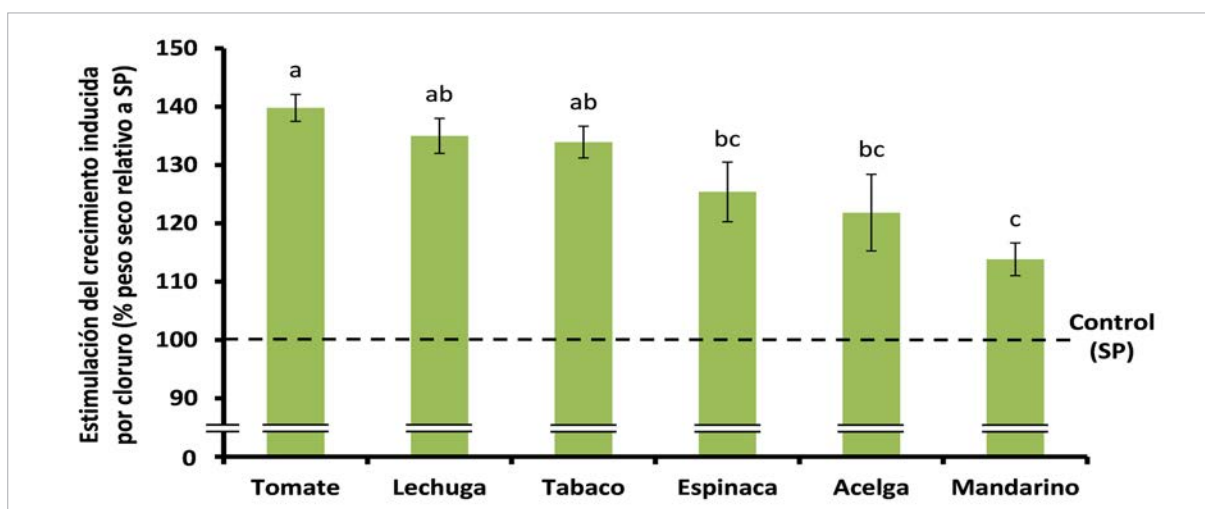


Figura 1. Efecto de la fertilización con cloruro sobre el crecimiento en diferentes plantas de interés hortícola. Las plantas crecieron en macetas con una solución nutritiva basal y dos suplementos, una mezcla de sales de cloruro (cloruro de potasio, calcio y magnesio, hasta alcanzar entre 20-50 $mg\ g^{-1}$ materia seca foliar) y SP (sulfatos y fosfatos de potasio, calcio y magnesio) como condición control. En la figura se muestra el porcentaje de cloruro con respecto a la condición control SP en varias especies vegetales. Se muestran los valores promedios con los errores estándar ($n = 6$). La estadística se realizó con el test de ANOVA y las letras representan grupos homogéneos con diferencias significativas con $P < 0.05$.

Además de sus beneficios a nivel de regulación osmótica y la expansión celular, hemos demostrado que el cloruro a niveles de macronutriente beneficioso reduce el consumo hídrico en plantas como el tabaco, el tomate y los cítricos. El aumento del tamaño de las células foliares produce una disminución de la densidad de los estomas y, en consecuencia, de la conductancia estomática (g^s) y del consumo de agua. Pero lo que aún resultó más sorprendente fue la constatación de que el cloruro mejoraba la difusión de CO_2 en el mesófilo (g^m), aparentemente por su efecto estimulante sobre la biogénesis de los cloroplastos, produciendo un mayor número de éstos con menor tamaño. Así, pese a reducir la capacidad de absorción de CO_2 , la reducción de la g^s producida por cloruro se veía compensada en por el aumento de la g^m o difusión de CO_2 en el mesófilo. La consecuencia es la capacidad de mantener la eficacia fotosintética con un menor consumo de agua y, por tanto, una mayor eficiencia en el uso de agua. Esto supone producir mayor biomasa vegetal con un mismo consumo de agua (Franco-Navarro et al., 2019). En resumen, hemos demostrado que los efectos beneficiosos de la fertilización con cloruro se basan en mayor capacidad osmoregulatoria, mayor expansión celular, mejora del estado hídrico, mayor eficiencia en el uso del agua y mayor ahorro en el consumo de agua en plantas de tabaco (Franco-Navarro et al., 2016; 2019; Colmenero-Flores et al., 2019).

En el contexto actual del cambio climático y considerando la fuerte demanda de agua en la agricultura, la sequía emerge como el estrés abiótico que afecta

de manera más severa a la productividad de los cultivos. Así, entender cómo las plantas usan el agua para optimizar la producción de biomasa y su rendimiento se ha convertido en un asunto fundamental en el mundo, y en uno de los principales 'Objetivos de Desarrollo Sostenible' (ODS) de los países miembros de la FAO (<http://www.fao.org/sustainable-development-goals/es/>). Las plantas son organismos sésiles que no pueden moverse y escapar de las condiciones ambientales desfavorables, por lo que han desarrollado una serie de respuestas adaptativas a la sequía a todos los niveles (fisiológicos, celulares y moleculares). Cuando las plantas sienten que hay una escasez de agua en el suelo, lo primero que hacen es cerrar los estomas de las hojas para reducir la transpiración, lo que conlleva un perjuicio para su principal fuente de alimentación, la fotosíntesis, reduciendo así tanto el crecimiento como la producción de los cultivos (Galmés et al., 2007; Ferguson et al., 2018).

En la agricultura, la eficiencia en el uso del agua se considera un elemento clave para minimizar la pérdida de agua en las plantas de cultivo. Este parámetro se define como la cantidad de carbono que es fijado en la fotosíntesis por unidad de agua transpirada por la planta (Blum, 2009). En los últimos años, se están realizando grandes esfuerzos para explicar cuáles son los factores genéticos y fisiológicos que están asociados con este parámetro. Por lo tanto, la fertilización rica en cloruro surge como una nueva estrategia para reducir el consumo de agua y mejorar la resistencia a la sequía de los cultivos hortícolas. Actualmente estamos investigando para encontrar una relación directa



entre la nutrición de cloruro y la resistencia a sequía en plantas. Como adelanto de un nuevo artículo científico que está actualmente en proceso de publicación, hemos demostrado que la fertilización con cloruro mejora el crecimiento y reduce los síntomas de estrés en plantas de tabaco y tomate sometidas a sequía (datos no publicados). Por tanto, consideramos que la implementación de la fertilización con cloruro como práctica agronómica reduciría el consumo de agua y aumentaría la resistencia a sequía en las plantas de cultivo.

Una fertilización rica en cloruro para reducir la contaminación por nitratos de origen agrícola y su impacto en la salud humana

El nitrógeno (N) es un macronutriente esencial para el crecimiento óptimo de las plantas, formando parte de moléculas tan importantes como las proteínas, ácidos nucleicos, clorofilas, coenzimas, etc. La forma predominante de N absorbido por las plantas es el nitrato, el cual mejora el rendimiento de las plantas de cultivo (Wang et al., 2012). Debido al incremento exponencial de la población mundial, existe una

demanda creciente de alimentos que ha promovido malas prácticas agrícolas, con un uso descontrolado de fertilizantes, ricos en nitrato, por los agricultores durante las últimas décadas. Este aumento del uso de fertilizantes químicos nitrogenados de bajo coste ha provocado serios problemas ambientales como la presencia de altos contenidos de nitratos en las hortalizas se considera también una seria amenaza para la salud humana. Aunque el nitrato por sí mismo no es perjudicial para los humanos, el peligro viene cuando es ingerido a través de los alimentos, principalmente verduras, y se transforma en compuestos tóxicos como el nitrito, las nitrosaminas y el óxido nítrico, gracias al efecto de enzimas que se encuentran en la saliva y provenientes de las bacterias de la microbiota gastrointestinal (Colla et al., 2018). La alta acumulación de estos compuestos en el cuerpo humano puede originar serios problemas de salud como el cáncer gástrico o de vejiga, así como la 'metahemoglobinemia' o 'síndrome del bebé azul' en los bebés y niños. Cuando el nitrato entra en el flujo sanguíneo, transforma la hemoglobina en metahemoglobina, ya sin capacidad para transportar el oxígeno a los pulmones, haciendo que los bebés



**Alta tecnología
para la agricultura
más productiva**



NOVAGRIC
AGRICULTURA INTELIGENTE

Proyectos que optimizan recursos e incrementan tu rentabilidad

NOVAGRIC invierte desde hace más de 40 años en innovación para proporcionar un servicio integrado, sostenible y personalizado de invernaderos, riego, fertirrigación, control de clima y tecnologías de alto rendimiento en todo el mundo. Desarrollamos proyectos completos desde el diseño hasta su puesta en marcha, incluyendo asesoramiento y formación técnica-agronómica para lograr una gestión eficiente de los recursos y garantizar el éxito de su producción.

Novedades Agrícolas, S.A. Tlf. 902 400 313 novagric@novagric.com www.novagric.com

se asfixien y mueran (Mesinga et al., 2003). Esto ha tenido impacto importante en países en desarrollo como Filipinas, donde en el año 2007 Greenpeace ya denunció 6000 muertes prematuras anuales de bebés por culpa de la contaminación con nitratos de las aguas "potables" que se usaban para preparar los biberones, o con casos recientes también en Gaza (Palestina).

En la Unión Europea, existe una regulación muy exigente del contenido de nitratos en el agua de consumo humano, así como en vegetales y alimentos procesados especialmente dedicados a la producción de productos alimentarios para grupos susceptibles como los bebés, ancianos, vegetarianos y veganos. Así, la Unión Europea ha establecido una serie de normas estrictas (1881/2006 y 1258/2011) que determinan una serie de umbrales del contenido de nitratos en las verduras más consumidas (como la espinaca y la lechuga), y especialmente en alimentos para bebés con límites mucho más estrictos, donde incluso se recomienda evitar el consumo de determinadas hortalizas en bebés antes del primer año de vida y su limitación en niños de 1 a 3 años. A nivel medioambiental, la Unión Europea ya creó en 1991 la Directiva de Nitratos, para proteger la calidad del agua en toda Europa, fomentando el uso de bue-

nas prácticas agrícolas para evitar que los nitratos procedentes de la agricultura contaminen las aguas superficiales y subterráneas.

Además de los beneficios de la nutrición de cloruro para el crecimiento, el uso del agua y del carbono en las plantas, recientemente hemos descubierto que la fertilización con cloruro también mejora la utilización del nitrato y la eficiencia en el uso de N en plantas de cultivo muy diversas, como tomate, tabaco, lechuga, espinaca, acelga y mandarino (Rosales et al., 2020). Estos efectos tienen un gran potencial tanto para la agricultura como para la salud humana. El cloruro y el nitrato son los aniones inorgánicos más abundantes en las plantas, los cuales comparten mecanismos de transporte en las membranas celulares, así como funciones de osmorregulación (Colmenero-Flores et al., 2019). Aunque existen varios estudios que sugieren un efecto negativo del cloruro en la absorción y asimilación de nitrato en la planta, nosotros hemos demostrado lo contrario. Es decir, como explicamos antes, las plantas estimulan la absorción y acumulación de cloruro en las hojas para desempeñar funciones de osmorregulación y mantener el balance hídrico, lo cual libera al nitrato de ese papel y lo hace disponible para su asimilación por las plantas y, por tanto, estimular su crecimiento. Por tanto, el uso de fertilizantes

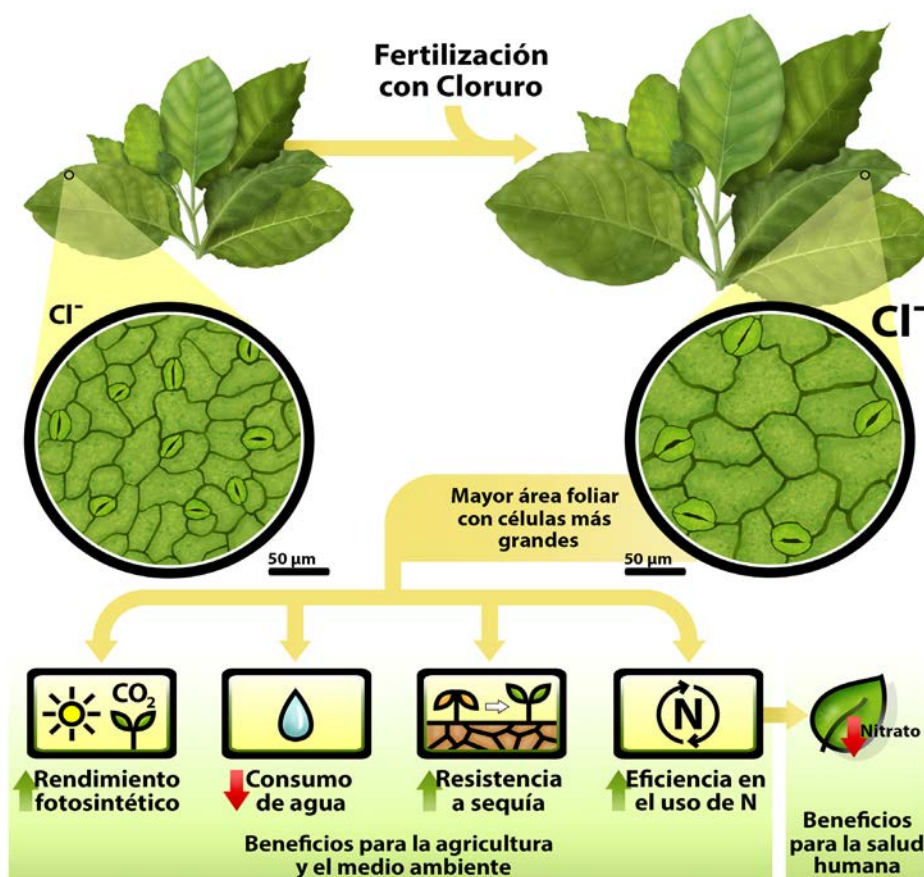


Figura 2. Modelo representativo de los efectos beneficiosos de la fertilización con cloruro en plantas.

ricos en cloruro puede tener una aplicación importante en una agricultura más sostenible, mediante la reducción del contenido de nitratos que se añade a los fertilizantes y, por tanto, la consecuente reducción de la contaminación de las aguas superficiales y subterráneas. Además, este estudio es especialmente relevante para las hortalizas de consumo humano, ya que la fertilización con cloruro reduce la acumulación de nitratos en las hojas y, por tanto, los riesgos que esto genera en la salud humana, lo cual mejora la calidad nutricional de estos productos hortícolas.

El impacto de esta investigación ha llamado la atención de la Unión Europea, la cual financiará el proyecto europeo ChlorPlant durante tres años (<https://cordis.europa.eu/project/id/895613/es>), concedido al Dr. Miguel A. Rosales, para profundizar en cómo la nutrición de cloruro modula los efectos del manejo del agua sobre el desarrollo, el uso del agua y el N, la producción y calidad de los frutos de tomate, así como la resistencia de estas plantas a la sequía y su aplicación a la agricultura.●



Agradecimientos

Estos estudios se han financiado con los Proyectos Nacionales "CLORHOME" (RTI2018-094460-B-100), 'CLORHIDRIC' (AGL2015-71386-R) y "CLOROPLOID" (AGL2009-08339) concedidos al Grupo de Regulación Iónica e Hídrica (RIH) del Departamento de Biotecnología Vegetal del IRNAS (CSIC).

47



Referencias

- Blum A. (2009) Effective use of water (EUW) and not water-use efficiency (WUE) is the target of crop yield improvement under drought stress. *Field Crops Research* 112:119-123.
- Colla G., Kim H.J., Kyriacou M.C., Roupheal Y. (2018) Nitrate in fruits and vegetables. *Scientia Horticulturae* 237:221-238.
- Colmenero-Flores J.M., Franco-Navarro J.D., Cubero-Font P., Peinado-Torrubia P., Rosales M.A. (2019) Chloride as a beneficial macronutrient in higher plants: new roles and regulation. *International Journal of Molecular Sciences* 20:4686.
- Ferguson J.N., Humphry M., Lawson T., Brendel O., Bechtold U. (2018) Natural variation of life-history traits, water use, and drought responses in *Arabidopsis*. *Plant Direct* 2:e35.
- Franco-Navarro J.D., Brumós J., Rosales M.A., Cubero-Font P., Talón M., Colmenero-Flores J.M. (2016) Chloride regulates leaf cell size and water relations in tobacco plants. *Journal of Experimental Botany* 67:873-891.
- Franco-Navarro J.D., Rosales M.A., Cubero-Font P., Calvo P., Álvarez R., Díaz-Espejo A., Colmenero-Flores J.M. (2019) Chloride as macronutrient increases water use efficiency by anatomically-driven reduced stomatal conductance and increased mesophyll diffusion to CO₂. *Plant Journal* 99:815-831.
- Galmés J., Medrano H., Flexas J. (2007) Photosynthetic limitations in response to water stress and recovery in Mediterranean plants with different growth forms. *New Phytologist* 175:81-93.
- Kant, S., Bi, Y. M., and Rothstein, S. J. (2011). Understanding plant response to nitrogen limitation for the improvement of crop nitrogen use efficiency. *Journal of Experimental Botany* 62, 1499-1509.
- Marschner, H. (2011) Mineral Nutrition of Higher Plants. 3rd edition. Academic Press, London.
- Mensinga, T.T., Speijers, J.G.A., Meulenbelt, J. (2003) Health implications of exposure to environmental nitrogenous compounds. *Toxicological Reviews* 22, 41-51.
- Nitrates Directive (1991) Council Directive 91/676/EEC concerning the protection of waters against pollution (https://ec.europa.eu/environment/water/water-nitrates/index_en.html).
- Raven, J.A. (2017) Chloride: essential micronutrient and multifunctional beneficial ion. *Journal of Experimental Botany* 68, 359-367.
- Rosales M.A., Franco-Navarro J.D., Peinado-Torrubia P., Díaz-Rueda P., Álvarez R., Colmenero-Flores J.M. (2020) Chloride improves nitrate utilization and NUE in plants. *Frontiers in Plant Science* 11:442.
- Umar A.S., Iqbal M. (2007) Nitrate accumulation in plants, factors affecting the process, and human health implications: a review. *Agronomy for Sustainable Development* 27:45-57.
- Wang, Y.Y., Hsu, P.K., Tsay, Y.F. (2012). Uptake, allocation and signaling of nitrate. *Trends in Plant Science* 17:458-467.
- White, P. J., and Broadley, M. R. (2001). Chloride in soils and its uptake and movement within the plant: a review. *Annals of Botany* 88, 967-988.